

## 平成 15 年度福島県における先天性代謝異常等 新生児マス・スクリーニングの実績

遠山ゆり子 吉田加寿子 芳賀晋一 柏原尚子 山本平一  
保健衛生部

### はじめに

福島県における先天性代謝異常等マス・スクリーニング事業は福島県先天性代謝異常等検査事業実施要綱<sup>1)</sup>に基づきアミノ酸代謝異常症 3 疾患，ガラクトース血症，先天性副腎過形成症（CAH）および甲状腺機能低下症（CH）の 6 疾患を対象に実施している。

本報告では，平成 15 年度に実施した福島県における新生児マス・スクリーニング検査業務の実績について，若干の考察を加えて報告する。

### 検査試料

検体は県内の協力医療機関（主に出生医療機関）でのインフォームド・コンセント後，保護者の同意，希望により新生児の足踵から専用紙に採血され，自然乾燥後当所に郵送される。採血時期は，日齢 4～6 日を推奨している。

検査には，乾燥したろ紙血液を直径 3mm に打ち抜いたディスクを使用した。

### 検査方法

検査は概ね検査実施要綱<sup>1)</sup>に則って行った。各項目の検査方法および検査に使用した試薬等は次に記載するとおりである。

### 1 アミノ酸代謝異常症

検査対象とする疾患はフェニルケトン尿症（Phenylketonuria：PKU），メープルシロップ尿症（Maple syrup urine disease：MSUD）およびホモシスチン尿症（Homocystinuria：HCU）の 3 疾患である。これらの疾患はアミノ酸の代謝過程における酵素または補酵素の欠損により，PKU ではフェニルアラニン，MSUD ではロイシン，イソロイシンおよびバリン，HCU ではメチオニンの血中濃度がそれぞれ高値となることから，検査ではそれぞれのアミノ酸（MSUD ではロイシン）を指標とする Bacterial inhibition assay（BIA 法）を用いている。すなわち，それぞれ 2-thienyl-alanine，4-aza-DL-leucine および L-methionine sulfoximine を阻害剤として加えた Demain 修正培地<sup>2)</sup>，枯草菌，芽胞懸濁液および寒天を表 1 で示した組成を含む培地を用い，直径 3mm 乾燥ろ紙血液ディスクを試料とし，表 1 に示した条件で培養後，枯草菌の発育帯の大きさを標準ろ紙血液と比較し判定した。

確認検査，二次検査としては平成 11 年から直径 3mm 乾燥ろ紙血液ディスクからの抽出液を用い HPLC 法で定量している。

**表1 Demain修正培地(BIA) 培地組成および培養条件**

疾患名	培養条件	培地組成				培養
		Demain修正培地	芽胞懸濁液	寒天	阻害剤	
フェニルケトン尿症	栄研化学 15mL	ATCC6633	2 × 10 <sup>8</sup> /mL 0.30mL	oxid 1.2g	2.5mM -2TA 0.20mL	37
メープルシロップ尿症	栄研化学 15mL	ATCC6051	2 × 10 <sup>8</sup> /mL 0.25mL	oxid 1.2g	10mM 4-AL 0.25mL	37
ホモシスチン尿症	栄研化学 15mL	ATCC6633	2 × 10 <sup>8</sup> /mL 0.18mL	oxid 1.2g	0.2mM MSO 0.32mL	37

注1 -2TA： -2thienyl-alanine，4-AT：4-aza-leucine，MSO：L-methionine-DL-sulfoximine

注2 培地の組成は精製水135mLあたりの添加量を示す。

## 2 ガラクトース血症

ガラクトース血症は欠損酵素の種類により 3 型に分類されるが、本事業では、Galactose-1-phosphate uridyltransferase 欠損症(Ⅰ型)<sup>3)</sup>の検出を目的として以下の 2 法を実施している。

Beutler 法<sup>4)</sup>は Gal-1-P uridyltransferase が欠損していると反応系に加えた G-1-P が変換せず最終的に蛍光を発しないことを利用した方法で直径 3mm 乾燥ろ紙血液ディスクに試薬を加え 37℃ で 4 時間放置後、365nm で蛍光の有無を判定した。

Paigen-吉田法<sup>5)</sup>は血液中のガラクトースが高値となる 3 型全て(Ⅰ型, Ⅱ型: Galactokinase 欠損症, Ⅲ型: Uridine diphosphate galactose-4-epimerase 欠損症)の検出を目的とした検査法で、ガラクトース存在下ではファージ C-21 による大腸菌 Q396 株の溶菌が起こらないことを利用している。BIA 法と同様、直径 3mm 乾燥ろ紙血液ディスクを試料とし、37℃ 18 時間培養後、大腸菌の発育帯の大きさを標準ろ紙血液と比較し判定した。

## 3 先天性副腎過形成症

本症は、欠損酵素の種類により数種の亜型が知られている<sup>6)</sup>。本事業ではこれらのうち最も高頻度に見出される 21-hydroxylase 欠損症を対象とし、本酵素の欠損で血中濃度が高値となる 17 $\beta$ -hydroxyprogesterone (17-OHP) を指標として検査を行っている。17-OHP の測定は、直径 3mm 乾燥ろ紙血液ディスク 1 枚を試料とし、競合 ELISA 法<sup>7)</sup>で行った。

## 4 先天性甲状腺機能低下症

本症は、甲状腺機能低下により血中の下垂体前葉から分泌される甲状腺刺激ホルモン (Thyroid stimulating hormone: TSH) が高値となることから、本事業では TSH を指標として検査を実施している<sup>8)</sup>。測定は直径 3mm 乾燥ろ紙血液ディスク 1 枚を試料とし、サンドイッチ ELISA 法<sup>9)</sup>で行った。

## 5 判定基準

収受した検体は、初回採取検体として一次検

表 2 先天性代謝異常検査疾患別検査基準

平成 15 年 4 月 1 日現在

疾患名	指標物質名	判定基準
フェニルケトン尿症	Phenylalanine(Phe)	初回採取検体の一次検査(BIA)によりPhenylalanine濃度が4mg/dL以上の検体につき確認検査および二次検査(HPLC)を行い、再度4mg/dLであった場合再採取検査を実施する。その結果、4mg/dL以上を検査陽性と判定する。
メープルシロップ尿症	Leucine(Leu)	初回採取検査によりLeucine濃度が4mg/dL以上の検体についてPKUと同様に取り扱う。
ホモシスチン尿症	Methionine(Met)	初回採取検査によりMethionine濃度が1mg/dL以上の検体についてPKUと同様に取り扱う。
ガラクトース血症	Beutler法:Galactose-1-P-uridyltransferase活性	初回採取検査により蛍光(-)の検体について確認検査を行い、再度蛍光(-)であった場合再採取検査を実施する。その結果蛍光(-)を検査陽性と判定する。
	Paigen法:Galactose(Gal)	初回採取検査によりGalactose濃度が8mg/dL以上の検体についてPKUと同様に取り扱う。
先天性副腎過形成症	17 $\beta$ -hydroxyprogesterone (17-OHP)	初回採取検査(直接法)により17-OHP濃度が20ng/mL以上または同一測定系上位5percentileの検体について確認検査および二次検査(抽出法)を行い、二次検査で7ng/mL以上あった場合再採取検査を実施する。再採取二次検査の結果が7ng/mL以上を検査陽性とする。ただし、初回採取二次検査の結果が30ng/mL以上の場合は初回陽性とする。
先天性甲状腺機能低下症	Thyroid stimulating hormone(TSH)	初回採取検査によりTSH濃度が9 $\mu$ U/mL以上または同一測定系上位3percentileの検体について確認検査を行い、再度10 $\mu$ U/mL以上あった場合再採取検査を実施する。再採取確認検査の結果が10 $\mu$ U/mL以上を検査陽性とする。ただし、初回採取確認検査の結果が30 $\mu$ U/mL以上の場合は初回陽性とする。

査を実施し、表2に示した基準値により判定した。基準値を上回った検体については確認検査を行い、再度同様の結果が得られた場合は再採血を依頼し、これを再採取検体として再検査を実施した。再採取検査の結果が基準値を上回った場合は、専門医による精密検査を受診するよう採血医療機関を通して指導する体制をとっている。ただし、対象となっているのはいずれも対処に急を要する疾患であることから、初回採取検体において高値を示し明らかに陽性と判定された場合は、初回陽性として速やかに精密検査を受けられるよう連絡体制をとっている。

### 成績ならびに考察

#### 1 検体数

平成15年度に収受した初回採取検体数は、20,461件で平成14年度に比し617件減で2.9%減少した。平成13年度から平成14年度の減少率3.8%に比しわずかであるが減少率が低下したが、やはり少子化は続いていると思われる。

出生時体重2,000g以下の検体数は370件で全体の1.8%を占めている。さらに出生時体重1,500g以下の児は146

人と低出生体重児のほぼ40%であり、平成14年度の37%に比較し低出生体重児のなかでも特に1500g以下の児の増加が顕著であった。

6疾患8項目の初回検査件数、確認検査件数、再採取検査件数の総数は156,093件であった。

#### 2 先天性代謝異常症

##### 1) フェニルケトン尿症

本疾患については血中フェニルアラニン4mg/dLをカットオフ値として判定した(表2)。初回陽性例は無かった。確認検査は473件2.3%実施したが、全て正常と判定され、疑陽性例は無かった。

##### 2) メープルシロップ尿症

血中ロイシン4mg/dLをカットオフ値として判定した。初回陽性例は無かった。確認検査は607件3.0%実施した。再採取を必要とした疑陽性例は2例あったが、いずれも再採取検査では正常と判定され、精密検査を必要とする陽性は無かった。

##### 3) ホモシスチン尿症

血中メチオニン1mg/dLをカットオフ値として判定した。初回陽性例は無かった。確認検査は1,375件6.7%実施し、再採取を必要とした疑陽性例は4例であった。再採取検査の結果4例中2例が陽性と判定されたが、精密検査の結果2例とも高メチオニン血症と診断され、ホモシスチン尿症と診断された例は無かった(表4)。

表3 先天性代謝異常等検査の検出状況

(平成15年度収受件数20,461件)

検査項目	疑陽性件数	陽性件数	確定件数
フェニルケトン尿症	0	0	0
メープルシロップ尿症	2(0.010)	0	0
ホモシスチン尿症	4(0.020)	2(0.010)	0
ガラクトース血症(ペイゲン法)	4(0.020)	0	0
ガラクトース血症(ポイトラー法)	2(0.010)	1(0.005)	1(1/20,461)
先天性副腎過形成症	299(1.461)	14(0.068)	0
先天性甲状腺機能低下症	222(1.085)	13(0.062)	4(1/5,115)

注1 疑陽性および陽性件数欄()内は全件数に対するパーセンテージを示す  
注2 確定件数欄()内は発生頻度を示す。

表4 ホモシスチン尿症スクリーニングにおける陽性例の検査成績および精密検査

陽性者 No.	性別	出生時 体重(g)	初回採血 年月日	初回検査値(mg/dL)		再採血 年月日	再検査値(mg/dL)		精密検査結果
				BIA	HPLC		BIA	HPLC	
1	女	2,456	H15.6.22	1	1.18	H15.7.1	>2	4.97	高メチオニン血症
2	男	3,255	H15.10.3	1~2	1.61	H15.10.30	6	6.09	高メチオニン血症

4) ガラクトース血症

Paigen-吉田法は血中 Gal 8mg/dL をカットオフ値として判定した。確認検査は 325 件 1.59%実施し、再採取を必要とした疑陽性例は 4 例あり、再検査の結果は正常であった(表 3)。

Beutler 法は 4 時間反応後、蛍光の有無を 350nm で検出し、蛍光有を正常、蛍光無を陽性とした。確認検査は 47 件 0.23%実施し、再採取を必要とした例は 2 例で、再検査の結果 1 例は正常であったが、1 例は Paigen-吉田法疑陽性の 1 例で、精密検査の結果、ガラクトース血症 型異型 (Duarte) と診断された(表 5)。

3 先天性副腎過形成症

本症は平成元年度からマス・スクリーニングが開始された疾患で副腎皮質ホルモン生成に関与する酵素の欠損症である。検査は表 2 に示した基準により判定しているが、塩喪失型では生後まもなくかまたは数週間後に急性の経過を辿り生命予後不良に至る重篤な状態をきたす例が少なくないことから、初回採取検体の 17-OHP が抽出法による検査で 30 ng/mL を越したものについては再採取検査をせずに初回陽性と判定し、直ちに精密検査を勧める体制をとっている。

表5 ガラクトース血症スクリーニングにおける陽性例の検査成績および精密検査

陽性者 No.	性別	出生時 体重(g)	初回採血日	初回検査値(mg/dL)		再採血日	再検査値(mg/dL)		精密検査結果
				ハイゲン	ポイトラー		ハイゲン	ポイトラー	
1	男	2,788	H16.3.13	8	蛍光無	H16.3.22	6	蛍光無	ガラクトース血症 型 Duarteバリエーション

表6 先天性副腎過形成症スクリーニングにおける陽性例の検査成績および精密検査

陽性者 番号	性別	出生時 体重(g)	初回採血 年月日	初回検査値 17 -OHP		再採血 年月日	再検査値 17 -OHP		精密検査結果
				直接法ng/mL	抽出法ng/mL		直接法ng/mL	抽出法ng/mL	
1	男	2,686	H15.3.26	21.6	7.4	H15.4.11	29.2	7.2	正常
						再々採血 H15.4.28	29.1	7.6	
2	男	2,580	H15.4.23	27.1	10.7	H15.5.8	25.0	7.2	経過観察
						再々採血 H15.5.22	33.6	8.3	
3	女	2,320	H15.4.27	42.6	16.7	H15.5.13	34.3	8.8	経過観察
						再々採血 H15.5.28	45.1	8.2	
4	男	842	H15.6.24	80以上	45.9	初回陽性		H15.6.30死亡(敗血症)	
5	男	930	H15.7.10	80以上	56.3	初回陽性		経過観察(10月正常)	
6	女	750	H15.7.25	80以上	39.8	初回陽性		正常	
7	女	2,974	H15.11.7	24.9	8.1	H15.11.14	26.6	7.6	正常
						再々採血 H15.11.28	21.1	7.4	
8	男	676	H15.12.8	80以上	60.2	初回陽性		正常	
9	男	3,610	H15.11.25	27.3	12.8	H15.12.8	15.8	8.2	経過観察
						再々採血 H15.12.18	12.4	7.8	
10	女	2,888	H16.1.7	22.5	8.3	H16.1.23	33.3	7.8	正常
						再々採血 H16.1.31	45.0	7.8	
11	女	860	H16.2.23	80以上	38.9	初回陽性		正常	
12	女	2,114	H16.2.16	26.3	8.1	H16.3.12	46.3	10.1	経過観察(正常)
13	男	2,130	H16.2.25	25.1	8.0	H16.3.13	39.6	8.8	正常
14	男	2,940	H16.3.17	26.2	9.0	H16.3.25	28.0	8.8	経過観察(17-OHP正常)

また、出生時体重が 2,000g 以下の低出生体重児や感染症など外的侵襲の多い例では非特異的に血中 17-OHP の上昇を示すことが多く、この種の原因で陽性と判定されたものについては担当医による経過観察を依頼するとともに、体重増加後の再採取検査を行っている。

本年度、初回陽性は 5 例で、いずれも 1,000 g 以下の超未熟児であった。1 例は陽性報告をした直後他疾患で死亡との報告を受けた。他 4 例は経過観察後正常化している。

本検査は表 2 に示したように、毎回の測定集団中上位 5 パーセントあるいは直接法 20 ng/mL 以上の検体について抽出法を行い、測定値が 7 ng/mL 以上であったものについて再採取検査を行うとしているため、確認検査数は 1,399 件 6.8%とアミノ酸代謝異常症等と比べ高率である。疑陽性は 299 件 1.46%であった。陽性と判定されたのは、表 6 に示すように、初回陽性も含め 14 例であったが、精密検査の結果、死亡 1 例、経過観察 3 例、正常が 9 例で患者は無かった。

#### 4 先天性甲状腺機能低下症

表 2 に示したように、本検査は毎回の測定群中上位 3 パーセントあるいは TSH 値 10  $\mu$ U/mL 以上であった検体について確認検査をし、再度 10  $\mu$ U/mL 以上であった場合は疑陽性として再採取検査を行う。再採取検査の結果 10  $\mu$ U/mL 以上を陽性と判定し、精密検査を受診するよう連絡体制をとっている。ただし、初回採取検査の結果が 30  $\mu$ U/mL 以上の場合は初回陽性として再採取検査をせず、速やかに専門医を受診するよう勧めている。

本年度の確認検査数は 815 件 3.98%で、そのうち疑陽性のため再採取を依頼した検体は 222 件で 1.08%であった。初回陽性 1 例と、再採取検査後陽性と判定された 11 例、計 12 例の成績および精査結果について表 7 に示した。本症と確定診断されたのは 4 例、経過観察 6 例、正常 2 例であった。

本症のわが国における発生頻度は 6 疾患中最も高く、昭和 54 年の検査開始以来平成 14 年度までの 24 年間の患者発見率は 1/ 3,800 であるが、本年度の県内の発見率は 1/ 5,115 であった。

表 7 先天性甲状腺機能低下症スクリーニングにおける陽性例の検査成績および精密検査結果

陽性者番号	性別	出生時体重	初回採血年月日	初回検査値 TSH( $\mu$ U/mL)	再採血年月日	再検査値 TSH( $\mu$ U/mL)	精密検査結果
1	女	3,344	H15.2.18	11.13	H15.4.2	13.2	一過性高 TSH 血症
2	女	498	H15.3.3.	1.21	H15.5.8	68.5	一過性甲状腺機能低下症 (手術後上昇、その後正常化)
3	男	2,900	H15.5.1	12.4	H15.5.16	35.8	先天性甲状腺機能低下症
4	女	2,796	H15.5.19	24.2	H15.5.26	25.3	先天性甲状腺機能低下症
5	男	708	H15.6.11	27.4	H15.6.25	>80	一過性甲状腺機能低下症 (手術後初回採血)
6	男	3,036	H15.7.6	20.0	H15.7.14	21.8	一過性高 TSH 血症
7	女	932	H15.4.8	15.5	H15.7.29	36.6	経過観察
8	男	2,970	H15.11.2	>80	初回陽性		先天性甲状腺機能低下症
9	女	3,268	H15.12.4	14	H15.12.18	10.7	先天性甲状腺機能低下症
					再々採血 H16.1.8	12.6	
10	男	3,300	H15.12.27	10.3	H16.1.9	12.7	正 常
11	男	1,238	H16.2.3	12.6	H16.2.23	14.6	高 TSH 血症
12	男	2,578	H16.3.10	12.4	H16.3.19	12.7	一過性高 TSH 血症(疑)

5 判定基準値一時変更の経過報告

先天性甲状腺機能低下症の測定には市販の測定試薬を使用している。これまで試薬ロットが変更になってもロット間差はなく、安定したデータを保っていた。しかし、平成16年1月、ロット変更後にTSH測定値の低値傾向がみられたためデータの比較を行った。図1に示すように、ロット変更後では低濃度に分布が推移し、検体の平均値も変更前の3.01  $\mu\text{U/mL}$  から2.66  $\mu\text{U/mL}$  に低下した。

また、外部精度管理検体でも約10  $\mu\text{U/mL}$  を示していた検体が、8.7  $\mu\text{U/mL}$  であった。最終的に疑陽性のための再採取率が変更前の1.02%から0.49%に低下した。

本症では初回採取検査でTSH濃度が9  $\mu\text{U/mL}$  以上または同一測定系上位3パーセントの検体について確認検査を行い、再度10  $\mu\text{U/mL}$  以上あった場合疑陽性として再採取検査を実施しているが、TSH濃度が9  $\mu\text{U/mL}$  以上で確認検査を行うものが変更前には12,242件中208件1.7%に対し、変更後では644件中1件0.2%になった。このため、患者の見逃しの可能性が高くなると考えられたため、1月28日より、協力医療機関に連絡の上、再採取検査の基準値を10  $\mu\text{U/mL}$  から8.5  $\mu\text{U/mL}$  に引き下げて、再採取を依頼することとした。

その後、試薬会社の検討の結果、変更後の試薬の標準濾紙血液の濃度設定に問題があったことが確認され、2月25日より新しいロットに変更になった。同様に検討を行った結果、図1に示したとおり、9  $\mu\text{U/mL}$  以上の検体が456件中9件2.0%で、検体の平均値が2.90  $\mu\text{U/mL}$  と変更前とほぼ同じで、低値傾向の改善が確認されたので、3月15日より、再採取検査の基準値を10  $\mu\text{U/mL}$  に引き上げた。

再採血の基準値を8.5  $\mu\text{U/mL}$  としていた期間の初回採取検体数は2,542件で、再採取を依頼したのは35件1.38%で、再採取検査の結果、1例の陽性を除き、すべて正常と判定された。この1例は精密検査の結果、本症と確定診断され

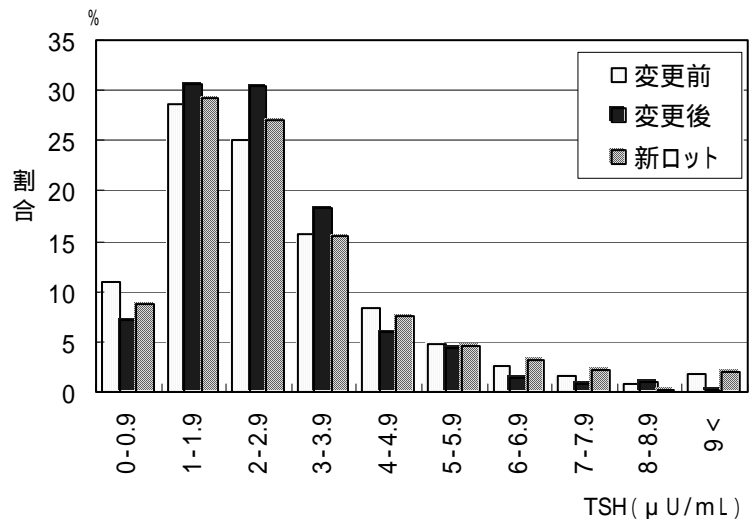


図1 初回採取検体に対する各TSH濃度の割合

た。

測定値の変動には早い時点で対応することが出来たので、基準値の変更前後においてもこれまでと同様の精度が保たれたと考えられる。

まとめ

- 平成15年度に収受した初回採取検体は20,461件で、6疾患8項目の一次検査数は146,328件であった。確認検査数は9,216件、確認検査の結果疑陽性で再採取検査を要したのは549件0.38%、陽性と判定されたのは29件0.02%であった。
- 先天性代謝異常症  
本年度はフェニルケトン尿症、メープルシロップ尿症については陽性例は無かった。ホモシスチン尿症陽性は2例で、精査の結果2例とも高メチオニン血症と診断された。ガラクトース血症 Beutler 法陽性の1例は、精査の結果ガラクトース血症 型 Duarte バリエーションと診断された。
- 先天性副腎過形成症  
本年度の検査陽性例は14例で、精査の結果、本疾患と診断された例は無かった。
- 先天性甲状腺機能低下症  
本年度の検査陽性例は12例で、精査の結果本疾患と診断されたのは4例であった。

### 引用文献

- 1) 福島県：福島県先天性代謝異常等検査事業実施要綱(15児1517号,平成15年4月1日,保健福祉部長)
- 2) Guthrie,R. : Blood screening for phenylketonuria. *J.Am.med.Assoc.*,**178**, 863, 1961
- 3) Segel,S. : Disorders of galactose metabolism. in *The Metabolic Basis of Inherited Disease* (eds Stanbury et al) 5th edn., McGraw-Hill,NY, 167-191,1982
- 4) Beutler,E.,and Baluda,M.C. : Improved method for measuring galactose-1-phosphate uridylyltransferase activity of erythrocytes.*Clin.Chim.Acta.***13**, 369-379,1966
- 5) 吉田篤子,田所雄次,他 : ペイゲン・ファージ法の改良 . 代謝異常スクリーニング研究会会報第4号 , 121-123 , 1979.
- 6) Maria,I.N. , Dupont,B.,et al. : Disorders of steroid metabolism . in *The Metabolic Basis of Inherited Disease*(Standury,J. B.,Wyngaarden,J.B.,.et.al.,eds.) 5th edn., McGraw-Hill Book Company, NewYork (1983) 973-1042
- 7) 福士勝 ,荒川修 ,他 : 先天性副腎過形成(21-水酸化酵素欠損症のマス・スクリーニングに関する研究)第3報 - マイクロプレートを用いる乾燥濾紙血液中の17-hydroxyprogesterone の酵素免疫測定法の開発 - . *日内分泌誌*,**63**, 113-122, 1987
- 8) 中島博徳 : 先天性甲状腺機能低下症 . 新生児マス・スクリーニングハンドブック(成瀬浩,松田一郎 編) , 南江堂 , 東京 (1989) 100-114 .
- 9) 水島好清 , 福士勝 , 他 : 甲状腺刺激ホルモンの酵素免疫測定法によるクレチン症マス・スクリーニングの検討 . *基礎と臨床* , **31**, 69-76, 1982